

AVALIAÇÃO DA SUBPOPULAÇÃO VIPÉRGICA DE NEURÔNIOS DO PLEXO SUBMUCOSO DE RATOS CAQUÉTICOS ADMINISTRADOS COM MELATONINA

Lucas Sala Bellettini (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Fabiana Galvão da Motta Lima, Maysa Pacheco Alvarez da Silva, Lídia Rodrigues Cicero, Juliana Vanessa Colombo Martins Perles, Jacqueline Nelisis Zaroni (Orientador). E-mail: ra117608@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde,
Maringá, PR.

Ciências Biológicas/ Morfologia

Palavras-chave: câncer; sistema nervoso entérico; estresse oxidativo.

RESUMO

O câncer é uma doença multifatorial e tem se mostrado um problema de saúde pública devido a sua alta prevalência e dificuldade de tratamento. Tendo isso em vista, o objetivo deste trabalho consistiu em avaliar o efeito da melatonina sobre a população neuronal VIPérgica do jejuno de ratos Wistar caquéticos. Estes foram distribuídos em 4 grupos: Controle (C), Controle administrado com melatonina 10 mg/kg (CM), Câncer linhagem A549 (A) e câncer A549 administrados com melatonina 10 mg/kg. O grupo A obteve aumento na densidade neuronal e na área do corpo celular ($p < 0,0001$) comparado ao controle. O grupo AM apresentou redução da densidade e área do corpo celular ($p < 0,0001$) comparado ao doente (A vs AM). Os resultados indicam uma maior expressão fenotípica de neurônios VIPérgicos e também uma maior atividade celular dessa subpopulação de neurônios. Conclui-se que o efeito da melatonina sobre a população neuronal do jejuno de ratos caquéticos foi benéfico, reduzindo densidade e área celulares a valores próximos aos do grupo controle.

INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença complexa e multifatorial, responsável por alta mortalidade global. Essa enfermidade se origina em um processo de mudança genética nas células, que podem ser iniciadas por fatores genéticos e/ou ambientais, perdendo o controle da replicação celular e gerando células que se dividem descontroladamente, trazendo alterações sistêmicas durante o desenvolvimento tumoral, como a síndrome da caquexia.

O processo caquético acontece por vários fatores causados pelo desenvolvimento tumoral, já que as células cancerosas atraem grande parte da resposta imune do paciente, o deixando mais propenso a inflamações sistêmicas, além de promover a má absorção de nutrientes, anorexia, astenia e uma mudança no metabolismo do indivíduo resultado de um desbalanço entre reações catabólicas e anabólicas, com

o consumo de energia alterado, por isso a suplementação nutricional não é suficiente para reverter os efeitos da caquexia (Rupert; Koniaris; Zimmers, 2019). Entre os vários tipos de tumores, o câncer no trato gastrointestinal (TGI) apresenta dor abdominal, má absorção de nutrientes, anorexia e alteração da motilidade do intestino (Correa, 2013). Quando falamos sobre a regulação e fisiologia do TGI, devemos lembrar do sistema que regula todos esses processos, o Sistema Nervoso Entérico (SNE). Devido a sua importante função de regulação no processo digestivo, alterações no SNE podem causar complicações. Em processos patológicos, como no câncer, ocorre um grande dano aos neurônios presentes na área, principalmente devido à liberação de espécies reativas de oxigênio (ERO) durante o processo de lesão do tecido pelas células neoplásicas. Essas moléculas liberadas geram subprodutos, chamados radicais livres, responsáveis por alterações em ácidos nucleicos e outros componentes, promovendo a morte celular e, sua origem está relacionada com a falha na redução dos elementos químicos oxigênio e nitrogênio, caracterizando um processo denominado estresse oxidativo, um dos fatores que contribuem para a lesão e morte dos neurônios (Harwell, 2007).

A pesquisa de novos antioxidantes para tratamento auxiliar das doenças que promovem estresse oxidativo tem aumentado, dentre esses, a atuação da melatonina no tratamento do câncer é assunto de destaque na ciência. A melatonina é um hormônio produzido na glândula pineal, muito associada ao ciclo circadiano do sono, porém estudos recentes mostram que a melatonina é produzida em outros órgãos e também possui função antioxidante, imunomodulador e algumas características oncogênicas. Atuando através de dois mecanismos, um dependente de receptores, MT1 e MT2, ligados à proteína G e atuando na diminuição da captação do ácido linoleico através da inibição do AMP cíclico, promovendo um efeito de controle proliferativo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos com animais foram realizados seguindo os princípios éticos da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL) e da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA nº 8812040521). Foram utilizados 20 ratos adultos machos, da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), variedade albinus. Eles foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos, contendo 5 animais cada: Controle (C), controle administrado com melatonina 10 mg/kg (CM), portadores de carcinoma pulmonar de células não-pequenas (A) e portadores de carcinoma pulmonar de células não-pequenas administrados com melatonina 10 mg/kg. a indução do tumor por meio da inoculação de uma suspensão de $1,0 \times 10^7$ células tumorais de carcinoma pulmonar de células não-pequenas (linhagem A549) injetada no flanco direito. A administração da melatonina foi realizada através de gavagem em cada animal, diariamente, com a dose sendo calculada pelo peso de cada animal a cada dois dias.

Após 14 dias de tratamento, os animais foram eutanasiados e o jejuno proximal foi coletado e dissecado para a realização das imunohistoquímicas para neurônios do plexo submucoso imunorreativos ao VIP. A determinação do estado caquético foi

realizada por meio do índice de caquexia (IC) (Guarnier et al., 2010). A quantificação foi realizada por amostragem na região intermediária, no plexo submucoso (Zanoni et al., 2003). Para análise morfométrica, foi avaliada a área do corpo celular de 100 neurônios VIPérgicos do plexo submucoso de cada animal, expressa em μm^2 . Para análise quantitativa, foi avaliada a densidade desses neurônios em 30 campos microscópicos aleatórios do plexo submucoso de cada animal, expressa em neurônios por cm^2 . Os resultados foram submetidos ao delineamento em blocos e pós teste de Fisher com nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No grupo A, 3 animais apresentaram IC > 10%, porém a média obtida para o grupo foi de 8,68%. Já para o grupo AM apenas 1 animal apresentou IC acima de 10% e a média do grupo foi de 7,79%. Em relação à subpopulação VIPérgica, ocorreu um aumento de 36,31% na densidade (C vs. A; $p < 0,001$), redução de 16,90% comparando A com AM ($p < 0,001$), além de um aumento de 36,69% comparando C com CM ($p < 0,001$). Além disso, ocorreu um aumento de 8,02% na área do grupo A em comparação com C ($360,05 \pm 6,11$ vs $388,92 \pm 5,88$; $p < 0,001$), redução de 09,3% comparando A com AM ($388,92 \pm 5,88$ vs $353,05 \pm 5,28$; $p < 0,001$), além disso não houve alterações significativas entre o grupo C e o grupo CM. Os resultados estão descritos na figura 1.

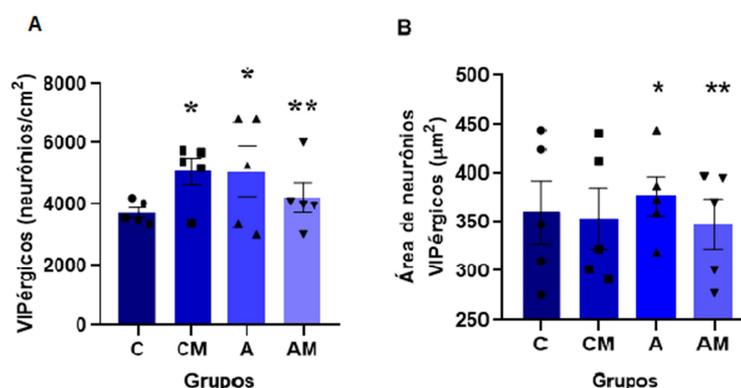


Figura 1. Em A - Densidade de neurônios VIPérgicos no plexo submucoso (neurônios/cm²). Grupos experimentais: controle (C), controle administrados com melatonina (CM), câncer - linhagem A549 (A) e câncer - linhagem A549 administrados com melatonina 10 mg/kg (AM). * indica $p < 0,05$ quando comparado ao grupo C e ** quando comparado ao grupo A. Em B - Área de neurônios VIPérgicos no plexo submucoso (μm^2). Grupos experimentais: controle (C), controle administrados com melatonina (CM), câncer - linhagem A549 (A) e câncer - linhagem A549 administrados com melatonina 10 mg/kg (AM). * indica $p < 0,05$ quando comparado ao grupo C e ** quando comparado ao grupo A.

Os resultados indicam uma maior expressão fenotípica de neurônios VIPérgicos e também uma maior atividade celular dessa subpopulação de neurônios. Além disso, os resultados do grupo AM mostram que a melatonina desenvolveu seu papel antioxidante trouxe os padrões para próximos ao controle (Rehman et al., 2019).

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados observados, podemos concluir que o carcinoma pulmonar de células não-pequenas altera a neurotransmissão VIPérgica em neurônios do plexo submucoso do Sistema Nervoso Entérico e que a administração de melatonina 10 mg/kg reverteu parcialmente as alterações causadas pela doença.

AGRADECIMENTOS

A coordenação. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela oportunidade e amparo financeiro com a bolsa disponibilizada. A minha orientadora Profa. Dra. Jacqueline Nelisis Zanoni, pelos materiais e laboratório, além de todo apoio e orientação. Agradeço a minha coorientadora Profa. Ma. Fabiana Galvão da Motta Lima por todo amparo, instrução e esclarecimento para realizar as técnicas.

REFERÊNCIAS

CORREA, P. Gastric Cancer: Overview. **Gastroenterology clinics of North America**, v. 42, n. 2, p. 211, jun. 2013.

GUARNIER, F. A. et al. Time course of skeletal muscle loss and oxidative stress in rats with Walker 256 solid tumor. **Muscle Nerve**. v.42, n.6, p.950-958, 2010.

HARWELL, B. Biochemistry of oxidative stress. **Biochemical Society Transactions**, v. 35, n. 5, p. 1147–1150, 1 nov. 2007.

RUPERT, J. E. et al. Multimodal Action of Mas Activation for Systemic Cancer Cachexia Therapy. **Cancer Research**, v. 79, n. 4, p. 699–700, 15 fev. 2019.

REHMAN, S. U. et al. Neurological enhancement effects of melatonin against brain injury-induced oxidative stress, neuroinflammation, and neurodegeneration via AMPK/CREB signaling. **Cells**, v. 8, n. 7, 1 jul. 2019